

STUDIO PILOTA DELLA SORVEGLIANZA DELLE INFEZIONI DA *CLOSTRIDIoidES (CLOSTRIDIUM) DIFFICILE*

PROGETTO “SOSTEGNO ALLA SORVEGLIANZA DELLE INFEZIONI CORRELATE ALL’ASSISTENZA ANCHE A SUPPORTO DEL PNCAR”, FINANZIATO DAL CENTRO NAZIONALE PER LA PREVENZIONE E IL CONTROLLO DELLE MALATTIE (CCM) E COORDINATO DALL’ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ (ISS)

PROTOCOLLO OPERATIVO

Versione 5.0 27/04/2022

RESPONSABILE SCIENTIFICO DELLO STUDIO

Patrizia Spigaglia

Istituto Superiore di Sanità

Dipartimento Malattie Infettive

Reparto Antibiotico Resistenza e Patogeni Speciali (ARPS)

Tel. 06 4990 2822

patrizia.spigaglia@iss.it

La redazione del documento è stata curata dal Gruppo di Lavoro per la Sorveglianza delle CDI, costituitosi nell'ambito del progetto "Sostegno alla Sorveglianza delle infezioni correlate all'assistenza anche a supporto del PNCAR", finanziato dal Centro nazionale per la prevenzione e il Controllo delle Malattie (CCM) e coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS).

GRUPPO DI LAVORO DELLA SORVEGLIANZA DELLE CDI

Fabrizio Barbanti

Roberta Creti

Paolo D'Ancona

Patrizia Spigaglia

Dipartimento di Malattie Infettive - Istituto Superiore di Sanità

Maria Adriana Cataldo

Istituto Nazionale per le Malattie Infettive (INMI) Lazzaro Spallanzani

Nicola Petrosillo

Servizio Controllo delle Infezioni e Consulenze Infettivologiche, Policlinico Universitario Campus Bio-Medico

Maria Luisa Moro

Enrico Ricchizzi

Agenzia Sanitaria e Sociale Regionale - Regione Emilia-Romagna

1. PRESENTAZIONE DELLO STUDIO PILOTA DELLA SORVEGLIANZA DELLE CDI

L'avvio di una sorveglianza microbiologica ed epidemiologica delle infezioni da *Clostridioides (Clostridium) difficile* (CDI) a livello nazionale è uno degli obiettivi del progetto "Sostegno alla sorveglianza delle infezioni correlate all'assistenza anche a supporto del PNCAR", finanziato dal Centro nazionale per la prevenzione e il Controllo delle Malattie (CCM) e coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS), che prevede un potenziamento delle diverse componenti della sorveglianza delle infezioni correlate all'assistenza (ICA) secondo le indicazioni del Piano Nazionale di Contrasto all'Antimicrobico-Resistenza (PNCAR).

Il presente studio pilota della sorveglianza delle CDI permetterà il raggiungimento dei seguenti obiettivi:

1. Stimare l'incidenza della CDI nelle strutture ospedaliere pubbliche coinvolte;
2. Monitorare la circolazione dei diversi ribotipi (RT) di *C. difficile* nelle strutture ospedaliere pubbliche coinvolte;
3. Determinare le caratteristiche di virulenza e di sensibilità agli antibiotici dei ceppi causa di CDI isolati nelle strutture ospedaliere pubbliche partecipanti;
4. Validare in termini di fattibilità e di efficacia il protocollo operativo adottato durante lo studio pilota così che possa essere esteso progressivamente sull'intero territorio nazionale.

Descrizione ed analisi del problema

Le ICA costituiscono la complicanza più frequente e grave dell'assistenza sanitaria. I dati del Ministero della Salute indicano che in Italia ogni anno si verificano dalle 450,000 alle 700,000 infezioni in persone ricoverate e, complessivamente, un'ICA si verifica nel 4-7% dei ricoveri.

Tra le ICA, le CDI sono considerate un problema di rilevanza per la salute pubblica a livello mondiale [1-3]. *C. difficile* è la principale causa di diarrea infettiva in ambito ospedaliero e in quelle strutture in cui si pratica assistenza sanitaria, sebbene negli ultimi anni si sia registrato un significativo aumento anche delle CDI acquisite in comunità. Il quadro clinico è eterogeneo, con infezioni di gravità variabile dalle diarree autolimitanti alle forme gravi, quali la colite pseudomembranosa e il megacolon tossico, che possono risultare fatali per il paziente.

Negli ultimi 15 anni si è osservato un drammatico cambiamento nell'epidemiologia della CDI

Negli Stati Uniti sono stimati circa 293,300 casi di CDI annui, con un numero di ricorrenze pari a 21,600 (95% CI, 16,900 - 26,300), e 2,000 decessi (95% CI, 1,200 a 2,800), correlati e non [4]. In Europa, una sorveglianza puntuale condotta dall'European Centre for Disease prevention and Control (ECDC) in 33 Paesi Europei nel 2011-2012 ha stimato un'incidenza della CDI acquisita in ospedale (HA-CDI) pari a 123,997 (95% CI 61,018-284,857) casi annui [5]. Da sottolineare il preoccupante problema della sottostima delle CDI. Un recente studio multicentrico Europeo ha stimato circa 40,000 casi di CDI/anno non diagnosticati negli ospedali europei per mancato sospetto clinico e non adeguata capacità diagnostica dei laboratori [6].

I cambiamenti epidemiologici della CDI sono stati associati all'emergenza di ceppi con caratteristiche di elevata virulenza e resistenti a molte classi di antibiotici (MDR). In particolare, il ribotipo (RT) 027 è stato identificato globalmente come una delle principali cause di CDI negli ultimi anni [7-9]. Molti altri RT epidemici con caratteristiche di elevata virulenza stanno emergendo sempre più

frequentemente, alcuni a livello internazionale, come l'RT 078, l'RT 017 e l'RT 106 [10-13], altri a livello nazionale, come l'RT 018 e l'RT 607 (anche noto come RT 356) in Italia [14].

È importante sottolineare che le CDI causate da ceppi altamente virulenti sono spesso associate ad un più alto numero di coliti che richiedono colectomie, e ad una più elevata mortalità [15,16], con un allungamento dell'ospedalizzazione e un conseguente aumento dei costi. In Europa il costo attribuibile per ogni paziente adulto affetto da CDI è stato stimato compreso tra €4,396 e €14,023, costo principalmente correlato alla ospedalizzazione [17-24].

Infine, agli RT altamente virulenti sono associate un maggior numero di recidive. La recidiva di CDI rappresenta una delle più importanti sfide nella gestione dei pazienti con CDI, causando un forte impatto sulla qualità di vita del paziente, sul tasso di ri-ospedalizzazione e sulla morbilità e mortalità. L'ECDC, con una sorveglianza condotta nel 2016 in 556 ospedali di 20 Paesi Europei, ha stimato che il 7.9% dei pazienti con CDI è andato incontro a recidive entro 4-8 settimane dal termine della terapia antibiotica e che nel 20.7% dei casi l'infezione ha avuto un esito fatale (https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER_for_2016-C-difficile_0.pdf).

In Italia non è ancora in atto una sorveglianza delle CDI e una recente indagine sulle CDI, condotta dal GdL con l'invio di un questionario ai Referenti delle Regioni e Province autonome (PA) ha evidenziato l'assenza di una sorveglianza delle CDI nella maggior parte delle Regioni/PA partecipanti all'indagine e la scarsa disponibilità di informazioni microbiologiche e epidemiologiche su questa infezione. Alcuni studi condotti nel nostro Paese negli ultimi anni, per lo più nel centro-nord, indicano dei valori di incidenza della CDI variabili da < 1.0 a 23.3 per 10,000 giornate di degenza [19-25]. Per quanto riguarda gli RT più diffusi nel nostro Paese, i dati disponibili indicano una prevalenza di RT 018 e RT 607, sebbene siano stati identificati e siano in aumento altri RT epidemici, inclusi l'RT 027 e l'RT 078 [14,26-28]. Inoltre, i dati indicano un aumento dei ceppi MDR che rappresentano circa il 62% dei ceppi isolati da CDI acquisite in ambito ospedaliero [14].

Attività proposte

Si propone uno studio pilota della durata di 4 mesi che coinvolga 4 Regioni italiane e 8 diverse strutture ospedaliere pubbliche. Aderendo alle direttive proposte dall'ECDC nel Protocollo Europeo per la sorveglianza delle CDI [29], lo studio si propone di raccogliere dati microbiologici e clinici in forma aggregata e per i singoli casi di CDI diagnosticati negli ospedali coinvolti. Saranno coinvolte le Regioni e Province Autonome del territorio nazionale. Ciascuna Regione sarà a sua volta rappresentata da strutture ospedaliere pubbliche, preferibilmente con bacino di utenza diverso, e in grado di poter isolare *C. difficile* dai campioni fecali analizzati per la diagnostica di routine presso i laboratori microbiologici degli stessi ospedali. L'isolamento dei 10 ceppi di *C. difficile*, previsti come numero massimo per ciascun mese dello studio pilota, potrà essere effettuato da campioni fecali positivi per *C. difficile* possibilmente consecutivi oppure potrà essere effettuato random da campioni positivi registrati nel periodo di studio e provenienti da pazienti diversi. I ceppi isolati saranno inviati da ciascun ospedale all'ISS per la tipizzazione e caratterizzazione molecolare. L'analisi molecolare dei ceppi permetterà di identificare i tipi di *C. difficile* circolanti del nostro Paese, in particolare quelli con caratteristiche di elevata virulenza e multi-resistenza agli antibiotici. Da molto tempo ormai in ISS è stato adottato il protocollo indicato dall'ECDC [30] per la tipizzazione e caratterizzazione molecolare dei ceppi di *C. difficile*. Sarà quindi possibile non solo un confronto dei risultati con quelli ottenuti negli altri Paesi Europei ma anche di evidenziare la circolazione di ceppi epidemici ad elevata virulenza e di ceppi emergenti. La raccolta dei dati microbiologici e clinici avverrà tramite l'utilizzo del software HelicsWin.Net, messo gratuitamente a disposizione dall'ECDC. L'utilizzo della tecnologia informatica rispetto alla tradizionale compilazione di schede cartacee

consentirà di ridurre i tempi di acquisizione dei dati, rendendoli tempestivamente disponibili per le successive fasi di controllo e di elaborazione, consentendo di agevolare la predisposizione di una banca dati omogenea, riducendo sensibilmente l'onerosa fase di data entry e anche la conseguente generazione di errori. L'utilizzo di tale software permetterà alle autorità sanitarie territoriali e regionali di valutarlo come possibile strumento idoneo alla sorveglianza delle CDI. Lo studio permetterà di ottenere dati microbiologici e epidemiologici rappresentativi per quanto riguarda il territorio nazionale e confrontabili tra loro.

Fattibilità /criticità delle attività proposte

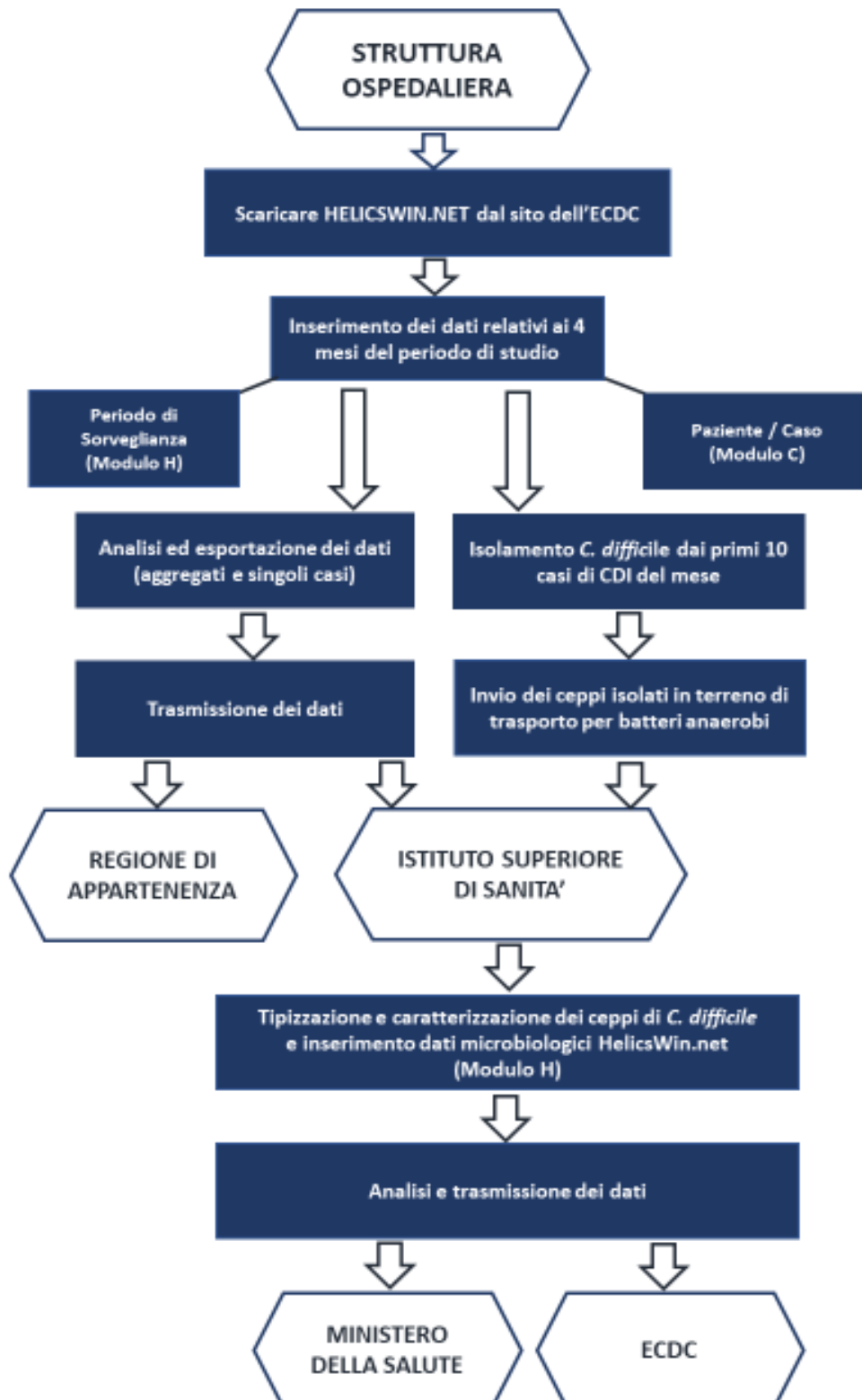
La fattibilità della proposta è sostenuta dall'interesse delle Regioni e degli ospedali partecipanti all'implementazione di un sistema di Sorveglianza delle CDI. Lo studio intende avvalersi della collaborazione di Regioni che partecipano al progetto "Sostegno alla Sorveglianza delle infezioni correlate all'assistenza anche a supporto del PNCAR" e che si sono dimostrate attive e partecipanti in precedenti studi e progetti coordinati dall'ISS e dell'INMI Lazzaro Spallanzani. La consolidata esperienza del Reparto di Antibiotico Resistenza e Patogeni Speciali dell'ISS, con la sua expertise e competenza, a livello nazionale e internazionale, sulla microbiologia delle CDI, tipizzazione e caratterizzazione dei ceppi, e la collaborazione dell'INMI Lazzaro Spallanzani, con la sua competenza nella clinica e trattamento delle CDI, e nella gestione del paziente affetto da CDI, permetterà di facilitare l'identificazione delle criticità e promuove il miglioramento, l'armonizzazione nel monitoraggio e reporting dei dati.

Le criticità ravvisabili riguardano le oggettive difficoltà relative alla gestione della raccolta dei dati ed all'isolamento dei ceppi da inviare all'ISS durante l'attuale pandemia che impegna già notevolmente il personale sanitario. Tuttavia è ragionevole attendersi che l'interesse dimostrato dalle Regioni partecipanti all'attivazione di una sorveglianza delle CDI faciliterà l'identificazione di soluzioni alle eventuali criticità pratiche ed organizzative.

Aree territoriali interessate e trasferibilità degli interventi

Il coinvolgimento di diverse Regioni e di diversi ospedali, che si differenziano sia per localizzazione geografica che organizzativa, permetterà di evidenziare punti di forza e criticità del presente studio pilota di sorveglianza delle CDI e di poterlo validare in termini di fattibilità e di efficacia in vista della sua trasferibilità alle altre Regioni e ospedali del Paese.

2. SCHEMA DEL STUDIO PILOTA



3. DEFINIZIONE DEI CRITERI DI INCLUSIONE / ESCLUSIONE ADOTTATI NELLO STUDIO PILOTA DELLA SORVEGLIANZA DELLE CDI

I criteri utilizzati nel presente Protocollo Operativo (PO) fanno riferimento al PO predisposto dall'ECDC [European Centre for Disease Prevention and Control. European Surveillance of *Clostridioides (Clostridium) difficile* infections. Surveillance protocol version 2.4. Stockholm: ECDC; 2019] per la Sorveglianza della CDI (**Allegato 1**).

Ospedali

Tutti gli ospedali definiti per acuti possono essere inclusi nella sorveglianza senza limite di dimensione.

Reparti

Tutti i reparti possono essere inclusi nella sorveglianza, ad esclusione di quelli in cui i pazienti non pernottano. Il pronto soccorso va incluso qualora i pazienti siano monitorati per più di 24 ore.

Pazienti (denominatore)

Tutti i pazienti ospedalizzati saranno inclusi nel denominatore. I bambini con età uguale o inferiore ai 2 anni saranno inclusi solo se sono presenti significative evidenze cliniche di CDI.

Un paziente sarà considerato ospedalizzato se registrato nel sistema amministrativo di ciascun ospedale e, quindi, potrà contribuire ai dati del denominatore (numero di ricoveri o dimissioni, numero paziente/giorno). Questo implica la permanenza per almeno una notte in ospedale.

Una giornata/paziente è definita come un giorno durante il quale un paziente è allettato e rimane tutta la notte in ospedale. I ricoveri diurni (ricovero in mattinata e dimissione prima della sera) non saranno inclusi.

Definizione di caso di CDI

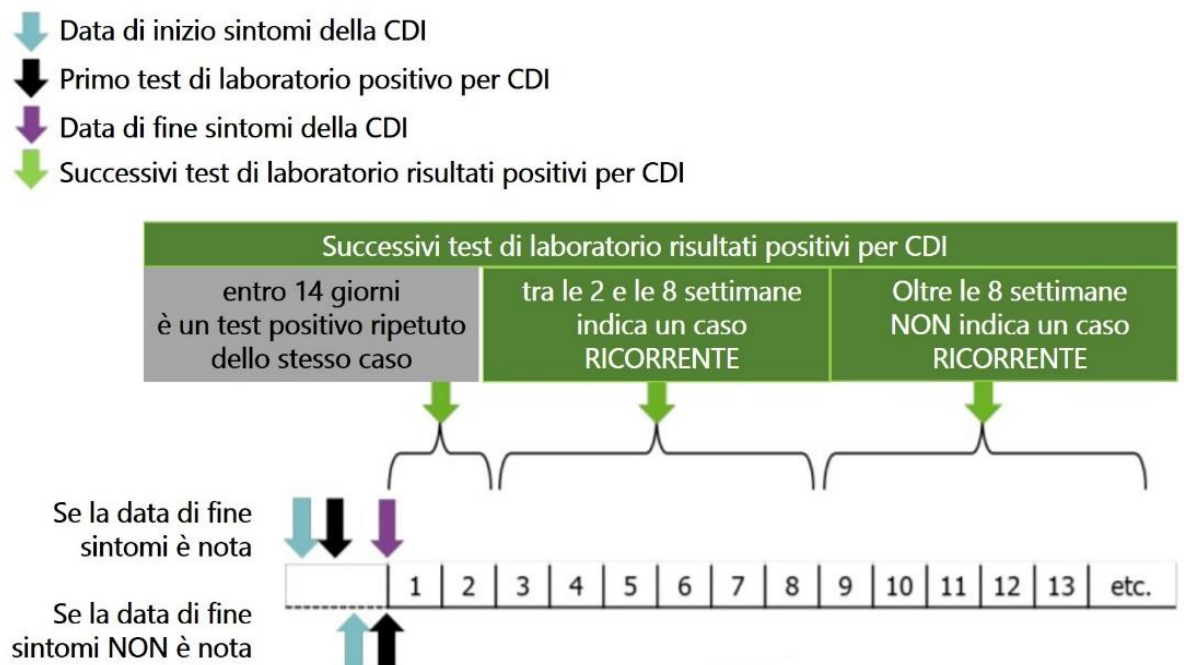
Un caso di CDI (definita in precedenza anche come diarrea associate a *C. difficile* o CDAD) deve soddisfare almeno uno dei seguenti criteri:

- Feci diarroiche o megacolon tossico e un'analisi di laboratorio positiva per la presenza della tossina A e/o B di *C. difficile* del campione fecale oppure identificazione di *C. difficile* produttore di tossine nel campione fecale
oppure
- Colite pseudomembranosa evidenziata da un esame endoscopico del tratto gastrointestinale inferiore
oppure
- Istopatologia del colon caratteristica dell'infezione da *C. difficile* (con o senza diarrea) su un campione ottenuto durante endoscopia, colectomia o autopsia.

Definizione di nuovo caso di CDI e ricorrenza in riferimento a precedenti episodi

- **Nuovo caso:** I casi con un test di laboratorio positivo per CDI dopo 8 settimane dalla scomparsa dei sintomi del precedente episodio o, in assenza della data di scomparsa dei sintomi, dopo 8 settimane dall'ultimo campione fecale positivo, sono considerati nuovi casi e pertanto inclusi nella sorveglianza (**Fig. 1**)
- **Ricorrenza:** I nuovi casi di CDI insorti tra le 2 e le 8 settimane successive alla scomparsa dei sintomi del precedente episodio o, in assenza della data di scomparsa dei sintomi, tra le 2 e le 8 settimane successive all'ultimo campione fecale positivo si definiscono ricorrenze (**Fig.1**). Nella clinica non è possibile differenziare tra una recidiva, nella quale l'infezione è causata dallo stesso ceppo di *C. difficile*, e una re-infezione, causata da un ceppo differente. Il termine ricorrenza è utilizzato per definire entrambe le circostanze, e questi casi saranno inclusi nella sorveglianza.
- I casi con un test di laboratorio positivo per CDI entro 14 giorni dalla scomparsa dei sintomi del precedente episodio o, in assenza della data di scomparsa dei sintomi, entro 14 giorni dall'ultimo campione fecale positivo non saranno considerati nuovi casi e quindi non saranno inclusi nella sorveglianza (**Fig. 1**).

Fig. 1: Definizione di nuovo caso e di ricorrenza in relazione a precedenti episodi di CDI



Casi (numeratore)

Saranno inclusi nei casi tutti i pazienti ospedalizzati affetti da CDI, per i criteri definiti in precedenza, che soddisferanno almeno uno dei seguenti criteri:

- La data di inizio dei sintomi della CDI è all'interno del periodo di sorveglianza (anche se il paziente è stato ricoverato in ospedale prima dell'inizio della sorveglianza)
- oppure
- Il paziente è stato ricoverato in ospedale durante il periodo della sorveglianza e presentava i sintomi al momento del ricovero, anche se la CDI è stata diagnosticata precedentemente al ricovero.
- oppure
- In caso di CDI ricorrente (vedi definizione precedente)

Saranno esclusi tutti i casi giornalieri, ad es. pazienti in dialisi (pazienti ambulatoriali).

È noto che i bambini sono spesso colonizzati in modo asintomatico da *C. difficile*. L'identificazione di *C. difficile* in i bambini di età inferiore a 2 anni dovrebbero portare all'esclusione di questi pazienti come casi di CDI nel numeratore a meno che la valutazione clinica supporti fortemente la diagnosi di CDI.

Origine del caso di CDI

L'origine del caso è basata sul luogo e la data di inizio dei sintomi. Se la data di insorgenza non è disponibile va considerata la data del primo test diagnostico positivo per *C. difficile* da campione fecale. Secondo l'origine i casi saranno classificati come segue:

A. CDI correlata all'assistenza (HA-CDI)

- Esordio dei sintomi di CDI dopo 48 ore dal ricovero in una struttura assistenziale
- Esordio dei sintomi nelle prime 48 ore dal ricovero in una struttura assistenziale ma entro 4 settimane dall'ultima dimissione (precedente ricovero nella stessa struttura o altra struttura ospedaliera o socio-sanitaria)
- Esordio dei sintomi di CDI in paziente a domicilio, ma entro 4 settimane dall'ultima dimissione (precedente ricovero nella stessa struttura o altra struttura ospedaliera o socio-sanitaria)

B. CDI comunitaria (CA-CDI)

- Esordio dei sintomi di CDI in paziente a domicilio o durante le prime 48 ore di ricovero in una struttura assistenziale, dopo aver accertato che l'esordio dei sintomi sia oltre le 12 settimane rispetto all'ultima dimissione da un precedente ricovero

C. CDI indeterminata (UNK-CDI)

- Il caso non rientra in nessuno dei precedenti criteri per la determinazione del luogo di acquisizione

4. DURATA DELLO STUDIO PILOTA, REGIONI E OSPEDALI PARTECIPANTI, RACCOLTA DEI DATI

Periodo di sorveglianza

Il periodo di sorveglianza proposto è di 4 mesi, dal 1° settembre 2022 al 31 dicembre 2022

Regioni e ospedali partecipanti

Parteciperanno Regioni e Province Autonome Italiane rappresentate da strutture ospedaliere pubbliche, preferibilmente con un bacino di utenza diverso

Raccolta dei dati

La raccolta dei dati avverrà tramite il software HelicsWin.Net che potrà essere scaricato gratuitamente da ciascun ospedale dal sito dell'ECDC all'indirizzo web <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/helicswinnet-hwn>.

L'utilizzo del software sarà facilitato grazie ad una breve guida redatta in italiano e ad un file di traduzione, che potrà essere importato da ciascun utente nel software, che saranno inviati dall'ISS alle strutture partecipanti (**Allegato 2 e 3**).

In breve, il software HelicsWin.Net potrà essere scaricato da ciascun operatore su PC Windows e registrerà i dati inseriti solo sul computer sul quale sarà stato installato. I dati saranno immessi da parte dei partecipanti seguendo tre diversi moduli: due per la raccolta dei dati aggregati e dei singoli casi (Modulo H e Modulo C) e uno per i dati microbiologici (Modulo M).

I dati potranno poi essere esportati in file di Microsoft Access (.mdb) dagli operatori ospedalieri per la trasmissione alle Regioni / Province Autonome di appartenenza e all'ISS. Ciascuna struttura ospedaliera sarà identificata tramite un codice numerico identificativo della struttura definito dal Ministero della Salute, come riportato al seguente link:

http://www.salute.gov.it/portale/documentazione/p6_2_2_1.jsp?lingua=italiano&id=1053.

Quando i dati personali relativi ad un caso di CDI saranno inseriti in HelicsWin.Net dagli operatori ospedalieri, il software genererà un codice anonimizzato che denominerà il caso di CDI e a questo codice saranno riferiti i dati quando saranno trasmessi all'ISS. Presso l'ISS si provvederà alla pseudonimizzazione dei dati tramite la ridenominazione dei casi con un codice alfanumerico. Lo stesso codice sarà anche utilizzato per denominare l'eventuale ceppo di *C. difficile* isolato dal campione fecale del paziente con CDI e inviato a ISS per la tipizzazione e caratterizzazione molecolare.

❖ **Modulo H**

Il modulo H è un modulo riassuntivo che raccoglierà dati di natura diversa.

Oltre ai dati aggregati relativi al denominatore per tutti i pazienti eleggibili di ciascun ospedale, altri dati aggregati saranno inclusi quali: caratteristiche ospedaliere di base: tipologia e dimensione dell'ospedale, necessarie per la stratificazione dei tassi di incidenza; dati numeratori aggregati: insieme ai dati del denominatore consentono il calcolo dell'incidenza delle CDI associate

all'assistenza sanitaria (e totale) negli ospedali partecipanti; frequenza dei test per CDI e test diagnostici in uso: indicatore di processo della sensibilità della sorveglianza.

❖ **Modulo C**

Nel modulo C saranno raccolti i dati aggregati relativi ai casi di CDI (numeratore).

I dati del numeratore saranno raccolti per tutti i pazienti per i quali saranno soddisfatti almeno uno dei criteri della definizione di caso di CDI, ed i criteri di inclusione nello studio pilota.

Nel modulo sarà generato il codice anonimo che permetterà di legare i dati del caso con i dati dei ceppi relativi alla tipizzazione, caratterizzazione e sensibilità agli antibiotici (vedi MODULO M).

Saranno anche raccolti i dati relativi a:

- sesso ed età (in anni o mesi) del paziente, alla data di ricovero in ospedale;
- reparto nel quale è ricoverato il paziente al momento della diagnosi di CDI;
- presenza di sintomi al ricovero;
- CDI ricorrenti;
- origine della CDI (HA-CDI, CA-CDI, UNK-CDI).

❖ **Modulo M**

Ad ogni ceppo isolato inviato all'ISS per la tipizzazione e la caratterizzazione molecolare sarà associato il modulo M per la raccolta dei dati microbiologici che includerà il codice anonimizzato del caso di CDI dal quale è stato isolato il ceppo. Questo modulo sarà compilato in ISS e riporterà:

- La data di isolamento del campione fecale positivo prelevato dal paziente al quale si riferisce il modulo;
- L'età del paziente in anni o mesi se inferiore ai 2 anni;
- I risultati della tipizzazione, caratterizzazione molecolare e sensibilità agli antibiotici effettuati presso l'ISS.

Relativamente all'inserimento dei dati, qualora un laboratorio di microbiologia centrale serva più strutture, nel software HelicsWin.Net saranno inseriti il codice ministeriale identificativo e i dati delle CDI registrate nell'ospedale che ospita la microbiologia centrale.

In ogni caso, qualora si volessero inviare i dati relativi alle CDI registrate in due o più ospedali afferenti ad un laboratorio di microbiologia centrale, i codici ministeriali identificativi e i dati relativi ai casi di CDI dovranno essere inseriti in HelicsWin.Net separatamente per le diverse strutture, creando quindi database separati.

Tutti i dati acquisiti, inclusi quelli relativi alla tipizzazione e alla caratterizzazione molecolare dei ceppi, saranno gestiti dall'ISS che provvederà alla loro analisi e alla trasmissione finale in forma aggregata al Ministero della Salute, all'ECDC e alle Regioni partecipanti. I dati saranno conservati in formato digitale anonimizzato, attraverso archiviazione in cloud, anche dopo il termine dello studio presso l'ISS e saranno gestiti dalla Dr Patrizia Spigaglia, responsabile scientifico dello studio pilota, e al Dr Fabrizio Barbanti del reparto Antibiotico Resistenza e Patogeni Speciali (ARPS) del Dipartimento di Malattie Infettive. L'analisi dei dati sarà pubblicata come rapporto scientifico per il Ministero della Salute e le Regioni partecipanti, articoli scientifici per riviste internazionali e nazionali, comunicazioni orali a convegni/congressi/simposi.

5. TIPIZZAZIONE E CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DEI CEPPI DI *C. DIFFICILE* ISOLATI DURANTE LO STUDIO PILOTA

Per l'isolamento dei ceppi di *C. difficile* saranno utilizzati i campioni fecali risultati positivi per questo patogeno alle analisi diagnostiche effettuate di routine presso i laboratori microbiologici delle strutture ospedaliere pubbliche partecipanti. Per quanto riguarda i fini del presente studio, i campioni fecali utilizzati non saranno conservati dopo l'isolamento di *C. difficile*.

I ceppi di *C. difficile* isolati da ciascuna struttura saranno poi inviati in ISS tramite corriere.

In ciascuna struttura, ogni mese, è previsto l'isolamento di 10 ceppi di *C. difficile* dai primi 10 campioni fecali consecutivi risultati positivi per *C. difficile*.

Alternativamente, l'isolamento potrà essere effettuato random dai campioni risultati positivi a *C. difficile* durante il mese.

Nell'intero periodo di studio un numero massimo di 40 ceppi di *C. difficile* potrà essere inviato in ISS da ciascuna struttura ospedaliera pubblica partecipante.

L'isolamento dei ceppi di *C. difficile* sarà eseguito possibilmente secondo i criteri indicati dalle Procedure Operative dell'ECDC [European Centre for Disease Prevention and Control. Laboratory procedures for diagnosis and typing of human *Clostridium difficile* infection. Stockholm: ECDC; 2018] presso i laboratori di ciascuna struttura del network. Una traduzione italiana del protocollo relativo alla diagnostica delle CDI, coltura e identificazione di *C. difficile* sarà fornita agli ospedali dall'ISS (**Allegato 4**).

In ciascun laboratorio microbiologico delle strutture ospedaliere partecipanti sarà individuato un responsabile della preparazione dei ceppi di *C. difficile* da inviare all'ISS, della preparazione di un appropriato imballaggio e della spedizione. I ceppi dovranno essere spediti utilizzando un terreno di trasporto per batteri anaerobi e inviati a temperatura ambiente. Ogni ceppo sarà denominato con il codice anonimizzato assegnato dal software HalicsWin.net al caso di CDI relativo. L'imballaggio dovrà comprendere almeno tre componenti: (a) un recipiente primario ove saranno collocati i ceppi, (b) un imballaggio secondario e (c) un imballaggio esterno. Uno degli imballaggi b) o c) dovrà essere rigido.

Le spedizioni dovranno essere effettuate come UN3373 "Materiale biologico, Categoria B" e dovranno essere inviate al Laboratorio di Riferimento Nazionale presso l'Istituto Superiore di Sanità all'indirizzo:

*Istituto Superiore di Sanità
c/o Ufficio Campioni
Via del Castro Laurenziano 25- 00161 Roma
All'attenzione della Dr.ssa Patrizia Spigaglia
Dipartimento Malattie Infettive*

I ceppi saranno tipizzati e caratterizzati tramite analisi molecolare e saggiati per la sensibilità agli antibiotici come indicato nel protocollo ECDC [European Centre for Disease Prevention and Control. European Surveillance of *Clostridioides (Clostridium) difficile* infections. Surveillance protocol version 2.4. Stockholm: ECDC; 2019] (**Allegato 1**). I test impiegati nelle analisi saranno utilizzati unicamente per scopi di ricerca.

I ceppi saranno quindi congelati a -80°C a costituire una ceppoteca presso l'ISS. La ceppoteca sarà locata presso il Gruppo Batteri Anaerobi, reparto Antibiotico Resistenza e Patogeni Speciali del

Dipartimento di Malattie Infettive, edificio 1, piano E, stanza 63 dell'ISS, la cui gestione sarà affidata alla Dr Patrizia Spigaglia, responsabile scientifico della sorveglianza, e al Dr Fabrizio Barbanti.

6. INVIO DEI DATI E CEPPI ALL' ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

Sono previsti due periodi di raccolta dei dati dei casi di CDI inseriti in HelicsWin.Net e dei ceppi isolati durante lo studio pilota.

I dati estrapolati in file di Microsoft Access (.mdb) e i ceppi potranno essere inviati nelle seguenti date:

- **7-14 novembre 2022**
Invio del file dati dei casi di CDI registrati tra settembre e ottobre 2022 e dei ceppi isolati nello stesso periodo
- **9 -15 gennaio 2023**
Invio del file dati dei casi di CDI registrati tra novembre e dicembre 2022 e dei ceppi isolati nello stesso periodo

Bibliografia

1. J. Pepin, L. Valiquette, M.E. Alary, P. Villemure, A. Pelletier, K. Forget, *et al.* *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a region of Quebec from 1991 to 2003: a changing pattern of disease severity. *Can Med Assoc J.* 2004, 171: 466-72
2. M.D. Zilberberg, A.F. Shorr, M.H. Kollef. Increase in adult *C. difficile*-related hospitalizations and case-fatality rate, United States, 2000-2005. *Emerg Infect Dis.* 2008; 14: 929-31
3. M.D. Redelings, F. Sorvillo, L. Mascola. Increase in *Clostridium difficile*-related mortality rates, United States, 1999–2004. *Emerg Infect Dis*, 13 (2007), pp. 1417-1419; A.M. Jones, E.J. Kuijper, M.H. Wilcox. *Clostridium difficile*: a European perspective. *J Infect.* 2013; 66: 115-28
4. F.C. Lessa, Y. Mu, W.M. Bamberg, Z.G. Beldavs, G.K. Dumyati, J.R. Dunn, *et al.* Burden of *Clostridium difficile* infection in the United States. *N. Engl. J. Med.*, 2015; 372: 825-34
5. European Centre for Disease Prevention and Control. Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals. Stockholm: ECDC; 2013
6. Davies KG, Longshaw CM, Davis GL, *et al.* Underdiagnosis of *Clostridium difficile* across Europe: The European, multicentre, prospective, biannual, point-prevalence study of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients with diarrhoea (EUCLID). *Lancet Infect Dis.* 2014; 14: 1208-19
7. Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P on behalf of the ESCMID study Group for *Clostridium difficile*, EU Member States, European Centre for Disease prevention and Control (ECDC). Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe. *Clin. Microbiol. Infect.* 2006; 12:2-18
8. Barbut F, Mastrantonio P, Delmee M, Brazier J, Kuijper E, Poxton I, European Study Group on *Clostridium difficile* (ESGCD). Prospective study of *Clostridium difficile* infections in Europe with phenotypic and genotypic characterization of the isolates. *Clin. Microbiol. Infect.* 2007; 13:1048-57
9. M.P. Bauer, D.W. Notermans, B.H.B. van Benthem, J.S. Brazier, M.H. Wilcox, M. Rupnik, D.L. Monnet, J.T. van Dissel, E.J. Kuijper, ECDIS Study Group, *Clostridium difficile* infection in Europe: a hospital-based survey: *Lancet.* 2011; 377: 63e73
10. J. Couturier, K. Davies, C. Gateau, F. Barbut, Ribotypes and new virulent strains across Europe, *Adv. Exp. Med. Biol.* 2018; 1050: 45e58;
11. Knight DR, Kullin B, Androga GO, Barbut F, Eckert C, Johnson S, Spigaglia P, Tateda K, Tsai P-J, Riley TV. Evolutionary and genomic insights into *Clostridioides difficile* sequence type 11: a diverse zoonotic and antimicrobial-resistant lineage of global One Health importance. *mBio.* 2019; 10:e00446-19
12. Korakrit Imwattana, Daniel R. Knight, Brian Kullin, Deirdre A. Collins, Papanin Putsathit, Pattarachai Kiratisin & Thomas V. Riley. Antimicrobial resistance in *Clostridium difficile* ribotype 017, *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 2020; 18: 17-25
13. Bryan Angelo P. Roxas, Jennifer Lising Roxas, Rachel Claus-Walker, Anusha Harishankar, Asad Mansoor, Farhan Anwar, Shobitha Jillella, Alison Williams, Jason Lindsey, Sean P. Elliott, Kareem W. Shehab, V.K. Viswanathan, Gayatri Vedantam. Phylogenomic analysis of *Clostridioides difficile* ribotype 106 strains reveals novel genetic islands and emergent phenotypes. *bioRxiv* 2020.02.27.968479

14. Barbanti F, Spigaglia P. Microbiological characteristics of human and animal isolates of *Clostridioides difficile* in Italy: Results of the Istituto Superiore di Sanità in the years 2006-2016. *Anaerobe*. 2020; 61:102136
15. Halabi WJ, Nguyen VQ, Carmichael JC, Pigazzi A, Stamos MJ, Mills S. *Clostridium difficile* colitis in the United States: a decade of trends, outcomes, risk factors for colectomy, and mortality after colectomy. *J Am Coll Surg*. 2013; 217:802-12.
16. Vardakas KZ, Polyzos KA, Patouni K, Rafailidis PI, Samonis G, Falagas ME. Treatment failure and recurrence of *Clostridium difficile* infection following treatment with vancomycin or metronidazole: a systematic review of the evidence. *Int J Antimicrob Agents*. 2012; 40:1-8
17. A. Asensio, S. Di Bella, A. Lo Vecchio, *et al*. The impact of *Clostridium difficile* infection on resource use and costs in hospitals in Spain and Italy: a matched cohort study. *Int J Infect Dis*. 2015; 36: 31-8
18. Heister, T., Wolkewitz, M., Hehn, P., Wolff, J., Dettenkofer, M., Grundmann, H., Kaier, K. Costs of hospital-acquired *Clostridium difficile* infections: an analysis on the effect of time-dependent exposures using routine and surveillance data. *Cost Eff Resour Alloc*. 2019; 17:16
19. Alicino C., Giacobbe D.R., Durando P., Bellina D., Di Bella A.M., Paganino C., Del Bono V., Viscoli C., Icardi G., Orsi A. Increasing incidence of *Clostridium difficile* infections: Results from a 5-year retrospective study in a large teaching hospital in the Italian region with the oldest population. *Epidemiol. Infect*. 2016; 19:1-10
20. Bassetti M, Astilean A, Arzese A, Cimarosti R, Barbone F, Pecori D. Epidemiology and predictors of recurrence of *Clostridium difficile* infection in a North Italian tertiary care hospital. *J Gastrointest Liver Dis*. 2014; 23:459-60
21. Di Bella S., Musso M., Cataldo M.A., Maledandri M., Bordi E., Capozzi D., Cava M.C., Chiaradonna P., Prignano G., Petrosillo N. *Clostridium difficile* infection in Italian urban hospitals: Data from 2016 through 2011. *BMC Infect. Dis*. 2013; 13:146-51
22. Mellace L., Consonni D., Jacchetti G., Del Medico M., Colombo R., Velati M., Formica S., Cappellini M.D., Castaldi S., Fabio G. Epidemiology of *Clostridium difficile*-associated disease in internal medicine wards in northern Italy. *Intern. Emerg. Med*. 2013; 8:717-23
23. Sansone S, Aschbacher R, Staffler M, Bombonato M, Girardi F, Larcher C, Wiedermann CJ. Nosocomial diarrhoea in adult medical patients: the role of *Clostridium difficile* in a North Italian acute care teaching hospital. *J Prev Med Hyg*. 2009; 50 :117-20
24. Roncarati, G., Dallolio, L., Leoni, E., Panico, M., Zanni, A., Farruggia, P. Surveillance of *Clostridium difficile* infections: results from a six-year retrospective study in nine hospitals of a North Italian local health authority. *Int J Environ Res Public Health*. 2017; 14: 61
25. Mellace L., Consonni D., Jacchetti G., Del Medico M., Colombo R., Velati M., Formica S., Cappellini M.D., Castaldi S., Fabio G. Epidemiology of *Clostridium difficile*-associated disease in internal medicine wards in northern Italy. *Intern. Emerg. Med*. 2013; 8:717-23
26. Spigaglia P, Barbanti F, Dionisi AM, Mastrantonio P. *Clostridium difficile* isolates resistant to fluoroquinolones in Italy: emergence of PCR ribotype 018. *J Clin Microbiol*. 2010; 48:2892-6
27. Freeman J, Vernon J, Pilling S, Morris K, Nicholson S, Shearman S, Longshaw C, Wilcox MH; The ClosER study: results from a three-year pan-European longitudinal surveillance of antibiotic resistance among prevalent *Clostridium difficile* ribotypes, 2011-2014. *Clin Microbiol Infect*. 2018, 24:724-31
28. Di Bella S, Paglia MG, Johnson E, Petrosillo N. *Clostridium difficile* 027 infection in Central Italy. *BMC Infect Dis*. 2012; 12:370
29. European Centre for Disease Prevention and Control. European Surveillance of *Clostridioides (Clostridium) difficile* infections. Surveillance protocol version 2.4. Stockholm: ECDC; 2019

30. European Centre for Disease Prevention and Control. Laboratory procedures for diagnosis and typing of human *Clostridium difficile* infection. Stockholm: ECDC; 2018